

Оптимизация клонального микроразмножения косточковых культур

© 2024. М. Г. Маркова✉, Е. Н. Сомова

ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения
Российской академии наук», г. Ижевск, Российская Федерация

Целью исследований являлась оптимизация клонального микроразмножения косточковых культур за счет использования улучшенных приемов. Объектами исследований на этапе введения в культуру *in vitro* служили меристематические апексы, собственно микроразмножения – микрочеренки, на этапе укоренения – укорененные микрочеренки, на этапе адаптации – микрорастения. Все эксперименты проведены по общепринятым методикам на примере сорта вишни степной Щедрая, сорта сливы домашней Казанская и черешни гибридной Фатеж. В результате исследований установлено: применение 10%-го раствора хлоргексидина для стерилизации исходного растительного материала косточковых культур в среднем увеличивало выживаемость апексов на 2,4 %; совместное использование в последнем пассаже пролиферации регуляторов роста 6-бензиламинопурина 0,5 мг/л, гиббереллиновой кислоты 0,2 мг/л, индол-3-масляной кислоты (ИМК) 0,2 мг/л в питательной среде и экспериментального светодиодного импульсного фитооблучателя активизировало пролиферацию микрочеренков, увеличив коэффициент размножения косточковых культур за 6 пассажей в среднем на 0,9 шт/эксплант; добавление в питательную среду ИМК 1,0 мг/л обеспечивало увеличение укореняемости микрочеренков косточковых культур в среднем на 9,6 %. Обработка микрорастений косточковых культур на этапе адаптации методом опрыскивания 8%-ным раствором экстракта продуктов жизнедеятельности личинок большой восковой моли и использование экспериментального светодиодного импульсного фитооблучателя со смешанным спектром способствовало увеличению их приживаемости в среднем на 12,4 %. Соблюдение предложенных улучшенных приемов клонального микроразмножения косточковых культур с использованием регуляторов роста и экспериментального светодиодного импульсного фитооблучателя со смешанным спектром позволило увеличить выход стандартных адаптированных микрорастений в два раза. При этом себестоимость одного адаптированного микрорастения уменьшилась в среднем на 11,4 руб., а рентабельность получения оздоровленного материала косточковых культур увеличилась на 33,7 % и составила 160,7 %.

Ключевые слова: культура *in vitro*, регуляторы роста, импульсный фитооблучатель, вишня, слива, черешня

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (тема № FUUE-2022-0001).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Маркова М. Г., Сомова Е. Н. Оптимизация клонального микроразмножения косточковых культур. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2024;25(2):189–197. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.2.189-197>

Поступила: 12.02.2024

Принята к публикации: 01.04.2024

Опубликована онлайн: 24.04.2024

Optimization of clonal micropropagation of stone fruit crops

© 2024. Marina G. Markova✉, Elena N. Somova

Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy
of Sciences, Izhevsk, Russian Federation

The aim of the research was to optimize the clonal micropropagation of stone crops through the use of improved techniques. The objects of the research at the stage of introduction into culture *in vitro* were meristematic apices, at the stage of micro-propagation itself – micro-shoots, at the rooting stage – rooted micro-shoots, at the adaptation stage – micro-plants. All experiments were carried out according to generally accepted methods using the example of the steppe cherry variety Shchedraya, the domestic plum variety Kazanskaya and the hybrid sweet cherry Fatezh. As a result of the research, it was found that the use of a 10 % chlorhexidine solution for sterilization of the initial plant material of stone crops increased the survival rate of apices on average by 2.4 %; the combined use of growth regulators 6-benzylaminopurine 0.5 mg/l, gibberellic acid 0.2 mg/l, indo-lil-3-butyric acid (IBA) 0.2 mg/l in a nutrient medium and an experimental diode pulsed phytoirradiator in the last proliferation passage activated the proliferation of micro-shoots, increasing the reproduction coefficient of stone crops in 6 passages by an average of 0.9 pcs/explant; the addition of 1.0 mg/l (IBA) to the nutrient medium provided an increase in the rooting capacity of micro-shoots of stone crops by an average of 9.6 %. The treatment of micro-plants of stone crops at the stage of adaptation by spraying with an 8 % solution of the extract of the products of the larvae of the large wax moth and the use of an experimental LED pulsed phytoirradiator with a mixed spectrum contributed to an increase in their survival rate by an average of 12.4 %. Compliance with the proposed improved methods of clonal micropropagation of stone crops using growth regulators and an experimental LED pulse phytoirradiator with a mixed spectrum made it possible to increase the yield of standard adapted micro-plants by 2 times. At the same time, the cost of one adapted micro-plant decreased by an average of 11.4 rubles, and the profitability of obtaining improved stone crop material increased by 33.7 % and amounted to 160.7 %.

Keywords: *in vitro* culture, growth regulators, pulsed phytoirradiator, cherry, plum, sweet cherry

Acknowledgements: the research was carried out under the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the state assignment of the Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (theme № FUUE-2022-0001).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review this work.

Conflict of interest: the authors stated that there is no conflict of interest.

For citation: Markova M. G., Somova E. N. Optimization of clonal micropropagation of stone fruit crops. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2024;25(2):189–197. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.2.189-197>

Received: 12.02.2024

Accepted for publication: 01.04.2024

Published online: 24.04.2024

В условиях Среднего Предуралья такие косточковые культуры, как вишня степная, слива домашняя и черешня гибридная пользуются большим спросом у населения. Их плоды ценятся за высокое содержание пектиновых веществ, которые являются антирадиантами, за богатый минеральный состав, наличие большого количества биологически активных веществ и витаминов. Использование новых пластичных и устойчивых к болезням сортов косточковых культур, в том числе вишни, сливы и черешни, позволит существенно увеличить экологическую устойчивость садоводства [1]. Обеспечение населения региона посадочным материалом этих культур в настоящее время остается актуальным. В данных почвенно-климатических условиях неплохо адаптировались сорт вишни степной Щедрая, выведенный в Свердловской селекционной станции садоводства, сорт сливы домашней Казанская селекции Татарского НИИСХ и сорт черешни гибридной Фатеж селекции Всероссийского селекционно-технологического института садоводства и питомниководства.

Одним из вегетативных способов размножения косточковых культур является клональное микроразмножение, которое включает в себя введение меристем в культуру *in vitro* с предварительной стерилизацией апексов, собственно микроразмножение и ризогенез микропобегов на гормональных средах, адаптацию мериклонов к условиям *in vivo* [2, 3]. Применение методов клонального микроразмножения помогает расширить ассортимент новых и упрощает получение трудноразмножаемых сортов. Наибольшее влияние на коэффициент размножения косточковых культур оказывает взаимодействие минеральной основы питательной среды и концентрации регуляторов роста [4]. По мнению ряда авторов, культивирование *in vitro* косточковых культур успешнее проходит на таких питательных средах, как Мурасиге-Скуга и Кворина-Лепорье [5, 6]. Важную роль играют также различные регуляторы роста цитокининовой и ауксиновой

природы. Выявлено, что микрочеренки обладают более высокой регенерационной способностью при одновременном использовании в питательных средах цитокинина и ауксина в сравнении с применением лишь одного цитокинина. Регулирующее действие гиббереллина на рост растений осуществляется также в тесной взаимосвязи с ауксином. Успех укоренения микрочеренков растений зависит от правильно подобранной концентрации ауксина [7, 8].

Успешное прохождение микрорастениями адаптации обеспечивает применение в качестве регулятора роста экстракта продуктов жизнедеятельности личинок большой восковой моли (ПЖЛВМ), который обладает иммуноиндуцирующими и протекторными свойствами, функционирует как биогумус. ПЖЛВМ представляют собой рассыпчатое вещество коричневого цвета с размером частиц от 0,1 до 3,0 мм и приятным запахом пчелопродуктов. Экстракт ПЖЛВМ содержит значительное количество калия, фосфатов, магния, цинка и железа, а также микроэлементы – медь, марганец, селен, хром, молибден, кобальт, следы кремния, ванадия и серебра. Обработка методом опрыскивания укорененных микрочеренков раствором экстракта ПЖЛВМ увеличивала выход адаптированных микрорастений [9].

При искусственном выращивании растений в замкнутых агроэкосистемах, в том числе в условиях *in vitro*, внимание исследователей привлекают импульсные режимы освещения, позволяющие не только стимулировать рост и развитие микрорастений, но и экономить до 65 % электроэнергии [10]. Существуют данные, что свет, направляемый на растения в коротких интенсивных импульсах, обеспечивает более высокую квантовую эффективность фотосистемы по сравнению с непрерывным светом. Однако практическая проверка импульсных облучателей в растениеводстве показала, что они могут оказывать как стимулирующее, так и угнетающее действие [11].

Цель исследований – сравнить традиционные и улучшенные приемы клонального микроразмножения косточковых культур.

Научная новизна. В условиях Удмуртской Республики практический интерес представляет изучение избирательной реакции микрорастений косточковых культур (вишня, слива, черешня) на различный минеральный состав питательных сред и регуляторы роста при оптимальном режиме освещения в условиях *in vitro*, *ex vitro*.

Материал и методы. Обобщены результаты исследований, проведенных в 2020–2023 гг. на примере вишни сорта Щедрая, сливы Казанская и черешни Фатеж. Эксперименты выполнены в соответствии с методическими указаниями¹ и ГОСТ Р 54051-2010².

Введение в культуру ткани наиболее эффективно в период активного роста косточковых культур, поэтому осуществлялось в конце мая – начале июня [12]. Все стерильные работы проведены в ламинар-боксе, культивирование – в светоконфлюэнтной лаборатории Удмуртского федерального исследовательского центра УрО РАН. Объекты исследований: на этапе инициации эксплантов – меристематические апексы в количестве 30 шт. по каждой культуре, на этапе собственно микроразмножения (полифериции) – микрочеренки, на этапе укоренения – укорененные микрочеренки, на этапе адаптации – микрорастения. На этапе введения в стерильную культуру применяли питательную среду Мурасиге-Скуга ($1/2$ MS) с половинной дозой макро- и микроэлементов и добавлением цитокинина 6-бензиламинопурина (6-БАП) в дозе 0,2 мг/л.

Для стерилизации эксплантов оценивали эффективность 33%-го раствора пергидроли и 10%-го раствора хлоргексидина в экспозиции 6–8 минут.

С первого по пятый пассаж микроразмножения использовали питательную среду Кворина-Лепорье (QL), обеспечивающую максимальный коэффициент размножения у всех косточковых культур в предыдущих экспериментах [13]. В последнем пассаже пролифериции в данную питательную среду добавлено сочетание регуляторов роста 6-бензиламино-

пурина (6-БАП), гиббереллиновой кислоты (ГК), индолил-3-масляной кислоты (ИМК) с целью увеличения выхода пригодных для укоренения микрочеренков и их укореняемости в следующем этапе (табл. 1). На этапе укоренения использована также питательная среда Кворина-Лепорье с концентрацией ИМК 1 мг/л. На этапе адаптации методом опрыскивания микрорастения один раз в сутки обрабатывали 8%-ным водным раствором экстракта ПЖЛВМ. Данная концентрация продуктов жизнедеятельности личинок большой восковой моли была самой эффективной при обработке методом опрыскивания микрорастений в предыдущих исследованиях, где, в том числе, применяли растворы 4%, 6% и 10%-ной концентрации [14]. Адаптация проведена в минипарниках и имела продолжительность 21 сутки. Субстратом служил торф низовой (pH = 6,5–7,0) производства АО «Удмуртторф» (Удмуртская Республика, Россия).

Для освещения применяли светодиодные фитооблучатели непрерывного режима освещения с тепло-белой световой температурой облучения (контроль) и экспериментальный импульсный со смешанным спектром облучения, разработанный на кафедре автоматизированного электропривода Удмуртского ГАУ специально для косточковых культур с учетом генетической памяти данных растений. Светодиодный импульсный фитооблучатель состоит из 16 последовательно соединенных красных, зеленых и синих светодиодов. Основной узел схемы – программируемый микроконтроллер. Кварцевый генератор импульсов обеспечивает длительность импульса излучения – 0,5 с, темновой паузы – 1 с, импульсного облучения – 30 с, непрерывного облучения – 15 с [15].

Растительный материал культивировали при освещенности 75–85 мМоль/м²·сек⁻¹, 6500 К, температуре 22...25 °С, относительной влажности воздуха 70–75 % и 16-часовом фотопериоде. Культуральным сосудом служила пробирка биологическая П2-21-200. Ростовые параметры микрорастений измеряли линейкой, статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа³.

¹Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур: методические указания. М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2013. 92 с.

²ГОСТ Р 54051-2010. Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2020. 12 с. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200084133>

³Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Альянс, 2011. 352 с.

*Таблица 1 – Традиционные и улучшенные приемы клонального микроразмножения косточковых культур /
Table 1 – Traditional and improved techniques for clonal micropropagation of stone fruit crops*

Этапы клонального микроразмножения / Stages of clonal micropropagation	Приемы / Techniques	
	традиционные / traditional	улучшенные / improved
Введение в культуру <i>in vitro</i> / Introduction to <i>in vitro</i> culture	Стерилизация эксплантов 33%-ным пергидролем / Sterilization of explants with 33% perhydrol	Стерилизация эксплантов 10%-ным хлоргексидином / Sterilization of explants with 10% chlorhexidine
Собственно микроразмножение / Micropropagation itself	QL + 6-БАП 0,5 мг/л + ГК 0,2 мг/л, светодиодный фитооблучатель в непрерывном режиме / QL + 6-BAP 0.5 mg/l + GA 0.2 mg/l, LED phytoirradiator in continuous mode	QL + 6-БАП 0,5 мг/л + ГК 0,2 мг/л + ИМК 0,2 мг/л, светодиодный фитооблучатель в импульсном режиме / QL + 6-BAP 0.5 mg/l + GA 0.2 mg/l + IBA 0.2 mg/l, LED phytoirradiator in pulse mode
Укоренение / Rooting	QL + ИМК 0,5 мг/л, светодиодный фитооблучатель в непрерывном режиме / QL + IBA 0.5 mg/l, LED phytoirradiator in continuous mode	QL + ИМК 1,0 мг/л, светодиодный фитооблучатель в непрерывном режиме / QL + IBA 1.0 mg/l, LED phytoirradiator in continuous mode
Адаптация / Adaptation	Опрыскивание дистиллированной водой при освещении светодиодным фитооблучателем в непрерывном режиме / Spraying with distilled water under illumination with LED phytoirradiator in continuous mode	Опрыскивание 8%-ным раствором ПЖЛВМ при освещении экспериментальным светодиодным фитооблучателем в импульсном режиме / Spraying with an 8% solution of waste products of large wax moth larvae under illumination with an experimental LED phytoirradiator in pulsed mode

Условные обозначения: QL – питательная среда Кворина-Лепорье; 6-БАП – 6-бензиламинопурин; ГК – гиббереллиновая кислота; ИМК – индол-3-масляная кислота; ПЖЛВМ – продукт жизнедеятельности личинок большой восковой моли /

Legend: QL – nutrient medium Quarina-Leporie; 6-BAP – 6-benzylaminopurine; GA – gibberellic acid; IBA – indolyl-3-butyric acid

Результаты и их обсуждение. На этапе инициации эксплантов исследована возможность получения стерильной культуры вишни, сливы и черешни в условиях *in vitro*. Задачами на данном этапе являлись освобождение от грибной и бактериальной инфекций, подавление фенольного окисления апексов в питательной среде и получение максимального количества здоровых эксплантов.

В сравнительном изучении стерилизация апексов 10%-ным хлоргексидином привела к увеличению выхода жизнеспособных эксплантов черешни на 8,3 %, у вишни и сливы выход эксплантов получен на уровне контрольного (табл. 2). В среднем по культурам с применением 10%-го хлоргексидина выход жизнеспособных эксплантов вырос на 2,4 % при НСР₀₅ = 3,0 %. Необходимо учитывать, что для получения 33%-го пергидроля требуется официальный запрос и договор, тогда как 10%-ный хлоргексидин находится в свободном доступе в сети «Госаптека». Поэтому, наряду с использованием для стерилизации растительного материала 33%-го пергидроля, можно эффективно применять 10%-й хлоргексидин.

Обеспечение быстрого размножения эксплантов в течение культивирования в нескольких пассажах достигается снятием апикального

доминирования при добавлении в питательную среду оптимальной концентрации цитокинина и правильным подбором питательной среды. Исследованиями, проведенными ранее [16], установлено, что оптимальной питательной средой для культивирования всех косточковых культур являлась среда Кворина-Лепорье в сравнении с Мурасиге-Скуга, Вуди Планта Медиум и Гамборга. Также выявлено, что совместное использование в последнем пассаже пролиферации 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л, ГК – 0,2 мг/л, ИМК – 0,2 мг/л приводило к увеличению выхода пригодных для укоренения микрочеренков. На этапе пролиферации отмечалось положительное влияние на коэффициент размножения экспериментального светодиодного фитооблучателя со смешанным спектром, работающего в импульсном режиме.

В последнем пассаже пролиферации в варианте с улучшенным приемом культивирования (6-БАП 0,5 мг/л + ГК 0,2 мг/л + ИМК 0,2 мг/л) отмечено увеличение коэффициента размножения на 1,6 шт/эксплант у сливы и на 1,2 шт/эксплант у черешни, у вишни он составил на уровне контрольного. В среднем по культурам коэффициент размножения увеличился существенно – на 0,9 при НСР₀₅ = 0,7 шт/эксплант.

Таблица 2 – Влияние изучаемых приемов на показатели микроразмножения косточковых культур *in vitro* и приживаемость в условиях *in vivo* /

Table 2 – The effect of the studied techniques on the indicators of micro-reproduction of stone crops *in vitro* and survival *in vivo*

Этап / Stage	Показатель, приемы / Indicator, techniques	Вишня / Cherry	Слива / Plum	Черешня / Sweet cherry	Среднее / Average
Введение в культуру / Introduction to culture	Выход жизнеспособных эксплантов, %; стерилизация 33%-ным пергидролем / Yield of viable explants, %; sterilization of explants with 33% perhydrol	50,0	54,5	50,0	51,5
	Выход жизнеспособных эксплантов, %; стерилизация 10%-ным хлоргексидином / Yield of viable explants, %; sterilization of explants with 10% chlorhexidine	50,0	53,4	58,3	53,9
	HCP ₀₅ / LSD ₀₅	-	-	-	3,0
Проплиферация / Proliferation	Коэффициент размножения, шт/эксплант (пригодных для укоренения микрочеренков); QL + 6-БАП 0,5 мг/л + ГК 0,2 мг/л, светодиодный фитооблучатель в непрерывном режиме / Reproduction coefficient, pcs/explant (shoots suited for rooting); QL + 6-BAP 0.5 mg/l + GA 0.2 mg/l, LED phytoirradiator in continuous mode	2,8	2,7	3,5	3,0
	Коэффициент размножения, шт/эксплант (пригодных для укоренения микрочеренков); QL + 6-БАП 0,5 мг/л + ГК 0,2 мг/л + ИМК 0,2 мг/л, светодиодный фитооблучатель в импульсном режиме / Reproduction coefficient, pcs/explant (shoots suited for rooting); QL + 6-BAP 0.5 mg/l + GA 0.2 mg/l + IBA 0.2 mg/l, LED phytoirradiator in pulse mode	2,7	4,3	4,7	3,9
	HCP ₀₅ / LSD ₀₅	-	-	-	0,7
Укоренение / Rooting	Укореняемость, %; QL + ИМК 0,5 мг/л, светодиодный фитооблучатель в непрерывном режиме / Rooting rate, %; QL + IBA 0.5 mg/l, LED phytoirradiator in continuous mode	50,2	54,7	69,7	58,2
	Укореняемость, %; QL + ИМК 1,0 мг/л, светодиодный фитооблучатель в непрерывном режиме / Rooting rate, %; QL + IBA 1.0 mg/l, LED phytoirradiator in continuous mode	59,8	63,8	79,8	67,8
	HCP ₀₅ / LSD ₀₅	-	-	-	5,9
Адаптация / Adaptation	Приживаемость в условиях <i>in vivo</i> , %; обработка методом опрыскивания дистиллированной водой при освещении светодиодным фитооблучателем в непрерывном режиме / Survival rate to <i>in vivo</i> conditions, %; treatment by spraying with distilled water under illumination with LED phytoirradiator in continuous mode	68,4	75,4	73,1	72,3
	Приживаемость в условиях <i>in vivo</i> , %; обработка методом опрыскивания 8%-ным раствором ПЖЛВМ при освещении экспериментальным светодиодным фитооблучателем в импульсном режиме / Survival rate to <i>in vivo</i> conditions, %; treatment by spraying with an 8% solution of waste products of wax moth larvae under illumination with an experimental LED phytoirradiator in pulsed mode	78,3	87,5	88,3	84,7
	HCP ₀₅ / LSD ₀₅	-	-	-	10,1

На этапе укоренения микрочеренков косточковых культур в сравнительном изучении выявлено увеличение их укореняемости в варианте с использованием улучшенного приема – при культивировании с ИМК в концентрации 1,0 мг/л укореняемость вишни выросла на 9,6 %, сливы – на 9,1 %, черешни – на 10,1 %. В среднем по культурам укореняемость микрочеренков увеличилась на 9,6 % при HCP = 5,9 % и соста-

вила 67,8 %. Добавление в питательную среду ИМК 1 мг/л стимулировало также увеличение показателей качества укорененных микрочеренков: все показатели превышали технические требования, предусмотренные ГОСТ Р 54051-2010⁴. Импульсный режим облучения, в сравнении с непрерывным, не оказывал влияния на укореняемость и показатели качества укорененных микрочеренков в предыдущих исследованиях,

⁴ГОСТ Р 54051-2010. Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. М.: Стандартинформ, 2011. 15 с. URL: <https://ohranatruda.ru/upload/iblock/42d/4293802592.pdf>

поэтому на данном этапе не включен для его оптимизации.

На этапе адаптации прием обработки методом опрыскивания 8%-ным раствором экстракта личинок большой восковой моли и использование импульсного экспериментального светодиодного фитооблучателя со смешанным спектром привело к увеличению приживаемости микрорастений вишни на 9,9 %, сливы – на 12,1 %, черешни – на 15,2 %. В среднем приживаемость косточковых культур увеличилась на 12,4 % при НСР₀₅ = 10,1 % и составила 84,7 %. К концу этапа микрорастения достигали высоты 9,0 см, что превышало показатель по ГОСТ Р 54051-2010⁵ (не менее 5 см).

Совместное использование в клональном микроразмножении косточковых культур новых приемов, таких как подбор минерального состава питательной среды с оптимальной концентрацией регуляторов роста в последнем пассаже пролиферации и на этапе укоренения, применение водного раствора ПЖЛВМ в нужной концентрации при адаптации микрорастений, освещение экспериментальным светодиодным импульсным фитооблучателем со смешанным спектром на этапах пролиферации и адаптации, оказывало положительное влияние на выход пригодных для укоренения микрочеренков, укореняемость микрочеренков и приживаемость микрорастений.

Таблица 3 – Сравнительная оценка клонального микроразмножения косточковых культур по традиционной и улучшенной методикам /

Table 3 – Comparative assessment of clonal micropropagation of stone crops using traditional and improved techniques

Этапы микроразмножения / Stages of micropropagation		Показатель / Indicator	Методика / Technique	
			традиционная traditional	улучшенная improved
Введение в стерильную культуру (10-14 суток) / Introduction to sterile culture (10-14 days)		Высажено, шт. / Planted, pcs.	30	30
		Выживаемость, % / Survival rate, %	51,5	53,9
Проплиферация / Prolifération пролиферация	1 пассаж (30 суток) / 1 passage (30 days)	Высажено, шт. / Planted, pcs	15	16
		Приживаемость, % / Survival rate, %	53,3	53,3
		Коэффициент размножения / Reproduction rate	2,0	2,0
	2 пассаж (30 суток) / 2 passage (30 days)	Высажено, шт. / Planted, pcs.	16	17
		Приживаемость, % / Survival rate, %	61,8	61,8
		Коэффициент размножения / Reproduction rate	3,0	3,0
	3 пассаж (30 суток) / 3 passage (30 days)	Высажено, шт. / Planted, pcs.	30	32
		Приживаемость, %/ Survival rate, %	72,6	72,6
		Коэффициент размножения / Reproduction rate	3,2	3,2
	4 пассаж (30 суток) / 4 passage (30 days)	Высажено, шт. / Planted, pcs.	70	74
		Приживаемость, % / Survival rate, %	78,7	78,7
		Коэффициент размножения / Reproduction rate	3,8	3,8
	5 пассаж (30 суток) / 5 passage (30 days)	Высажено, шт. / Planted, pcs.	209	221
		Приживаемость, % / Survival rate, %	73,3	73,3
		Коэффициент размножения / Reproduction rate	5,4	5,4
	6 пассаж (30 суток) / 6 passage (30 days)	Высажено, шт. / Planted, pcs.	826	875
		Приживаемость, % / Survival rate, %	86,6	86,6
		Коэффициент размножения / Reproduction rate	3,0	3,9
Укоренение (30-60 суток) / Rooting (30-60 days)		Высажено, шт. / Planted, pcs.	2145	2955
		Выживаемость, % / Survival rate, %	82,0	88,0
		Укореняемость, % / Rooting rate, %	58,2	67,7
		Выход кондиционных микрорастений, шт. / Yield of standard microplants, pcs.	1023	1760
Адаптация (21 сутки) / Adaptation (21 days)		Высажено, шт. / Planted, pcs.	1023	1760
		Приживаемость, % / Survival rate, %	72,3	84,7
		Выход адаптированных микрорастений, шт. / Output of adapted plants, pcs	740	1490

⁵ГОСТ Р 54051-2010. URL: <https://ohranatruda.ru/upload/iblock/42d/4293802592.pdf>

Культивирование косточковых культур *in vitro* с использованием на каждом этапе улучшенных приемов, в сравнении с традиционными, проходило значительно эффективнее и послужило основой для разработки новой методики клонального микроразмножения данных культур.

Соблюдение предложенной улучшенной методики клонального микроразмножения косточковых культур, состоящей из четырех этапов, позволило увеличить выход стандартных адаптированных микрорастений в 2 раза (табл. 3).

При расчете себестоимости одного адаптированного микрорастения, как конечного продукта клонального микроразмножения, культивирование по улучшенной методике получается менее затратным на 11,4 руб., чем по традиционной (табл. 4).

С учетом расчетной себестоимости, условно чистого дохода и рыночной стоимости одного адаптированного микрорастения 200 руб., рентабельность получения оздоровленного материала косточковых культур по улучшенной методике клонального микроразмножения составила 160,7 %, что на 33,7 % выше, чем по традиционной (табл. 5).

Таблица 4 – Расчет себестоимости 100 шт. микрорастений косточковых культур при культивировании *in vitro*, руб. /

Table 4 – Cost calculation for 100 pcs. of microplants of stone fruit crops during *in vitro* cultivation, rubles

Вид затрат / Type of costs	Методика / Technique	
	традиционная traditional	улучшенная improved
Зарплата сотрудников с начислениями / Employee salaries with accruals	5224,2	4336,0
Стоимость исходного растительного материала / Cost of initial plant material	350,0	350,0
Оплата электроэнергии / Payment for electricity	510	480
Оплата водоснабжения / Payment for water supply	12	12
Стоимость спирта / The cost of alcohol	144	144
Стоимость питательной среды с регуляторами роста / Cost of nutrient medium with growth regulators	111,4	139,2
Стоимость малоценного инвентаря (10%-ный хлоргексидин, вата, минипарники и др.) / Cost of low-value equipment (10% chlorhexidine, cotton wool, mini-greenhouses, etc.)	220	230
Стоимость торфяного субстрата 15 л / The cost of peat substrate is 15 liters	128,3	128,3
Амортизационные отчисления / Depreciation deductions	80	80
Итого прямые затраты / Total direct costs	6779,6	5899,5
Накладные расходы (30 %) / Overheads (30 %)	2033,9	1769,8
Всего затрат / Total costs	8813,5	7669,3
Себестоимость одного адаптированного растения / Cost of one adapted plant	88,1	76,7

Таблица 5 – Эффективность получения адаптированных растений косточковых культур по традиционной и улучшенной методикам

Table 5 – Efficiency of obtaining adapted stone fruit plants using traditional and improved techniques

Методика / Techniques	Выход стандартных растений, шт. / Output of standard plants, pcs.	Себестоимость 1 растения, руб. / Cost of 1 plant, rubles	Условно чистый доход с 1 растения, руб. / Conditionally net income from 1 plant, rubles	Уровень рентабельности, % / Profitability level, %
Традиционная / Traditional	740	88,1	111,9	127,0
Улучшенная / Improved	1490	76,7	123,3	160,7

Закключение. Клональное микроразмножение косточковых культур по улучшенной методике позволило увеличить выход стандартных адаптированных микрорастений в два раза за счет:

- оптимизации минерального состава питательной среды и концентрации регуляторов роста в последнем пассаже пролиферации (Кворина-Лепорье + 6-БАП 0,5 мг/л + ГК 0,2 мг/л + ИМК 0,2 мг/л);

- правильно подобранной концентрации индуктора ризогенеза на этапе укоренения (Кворина-Лепорье + ИМК 1,0 мг/л);

- обработки методом опрыскивания раствором экстракта продуктов жизнедеятельности личинок большой восковой моли в оптимальной

концентрации (8%-ной) при адаптации микрорастений;

- использования экспериментального светодиодного импульсного фитооблучателя со смешанным спектром, который способствовал увеличению выхода пригодных для укоренения микрочеренков и приживаемости микрорастений, а также экономии электроэнергии на этапах пролиферации и адаптации.

Себестоимость одного адаптированного микрорастения косточковых культур, полученного по улучшенной методике культивирования, уменьшилась в среднем на 11,4 руб., рентабельность получения оздоровленного материала увеличилась на 33,7 % и составила 160,7 %.

Список литературы

1. Васильев А. А., Гасымов Ф. М., Галимов В. Р. Адаптивный потенциал вишни в Челябинской области. Плодоводство и виноградарство юга России. 2021;(67(1)):44–54. DOI: <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-1-67-44-54> EDN: EWFPUA
2. Супрун И. И., Винтер М. А., Лободина Е. В., Аль-Накиб Е. А., Авакимян А. О., Федорович С. В. Ключевые вопросы биотехнологии в размножении и оздоровлении садовых культур. Плодоводство и виноградарство юга России. 2021;(71(5)):96–115. DOI: <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-5-71-96-115> EDN: RKJBTC
3. Isroilova Sh. Ja. *In vitro* microclonal multiplication of fruit cultures. Theoretical & Applied Science. 2019;(5(73)):531–535. DOI: <https://dx.doi.org/10.15863/TAS.2019.05.73.81>
4. Молканова О. И., Мелешук Е. А., Ахметова Л. Р. Изучение морфогенетического потенциала некоторых представителей рода *Cerasus* (mill.) в культуре *in vitro*. Тенденции развития науки и образования. 2019;(56-13): 90–94. DOI: <https://doi.org/10.18411/lj-11-2019-294> EDN: IFDSNB
5. Авакимян А. О. Питательные среды и их модификации, используемые для клонального микроразмножения вишни и черешни. Достижения науки и образования. 2023;(4(91)):10–18. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=54944735> EDN: ISTYDE
6. Ташматова Л. В., Ряго Н. В., Мельяновская А. Ю. Влияние питательных сред с различным гормональным составом на интенсивность размножения сортов вишни в культуре *in vitro*. Субтропическое и декоративное садоводство. 2021;(78):76–82. DOI: <https://doi.org/10.31360/2225-3068-2021-78-76-82> EDN: UCRQIM
7. Aremu A. O., Amoo S. O., Fawole O. A., Buthlezi N. M., Makunga N. P., Masondo N. A., Moyo M. Applications of cytokinins in horticultural fruit crops: Trends and future prospects. Biomolecules. 2020;10(9):1–71. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10091222>
8. Макаров С. С., Кузнецова И. Б., Сунгурова Н. Р., Кульничий А. Н., Чудецкий А. И., Ахметова Л. Р., Акимова С. В. Клональное микроразмножение вишни обыкновенной (*Prunus cerasus* L.) сорта Шоколадница с использованием ростостимулирующих веществ. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2023;(6(104)):86–92. DOI: <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2023-104-6-86-92> EDN: THEMRI
9. Осокина А. С., Колбина Л. М., Гущин А. В. Биологические основы разведения большой восковой моли (*Galleria melonella* L.) как источника биологически активных веществ: монография. Ижевск: Изд-во Анны Зелениной, 2019. 166 с.
10. Баранова И. А., Кондратьева Н. П., Батуринов А. И., Батурина К. А. Сравнение влияния различных режимов облучения на увеличение площади листьев меристемных растений статистическими методами. Вестник НГИЭИ. 2022;(5(132)):55–64. DOI: <https://doi.org/10.24412/2227-9407-2022-5-55-64> EDN: BEEQBR
11. Зеленков В. Н., Латушкин В. В., Иванова М. И., Лапин А. А., Карпачев В. В., Кособрюхов А. А., Верник П. А., Гаврилов С. В. Влияние импульсного освещения на прорастание семян некоторых овощных, масличных и лекарственных растений. Фотоника. 2020;14(5):442–461 DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-7296.FRos.2020.14.5.442.460> EDN: FBFLFC
12. Шахов В. В., Федотова И. Э., Ташматова Л. В., Мацнева О. В., Хромова Т. М. Влияние сезонного фактора на приживаемость эксплантов вишни обыкновенной в культуре *in vitro*. Международный научно-исследовательский журнал. 2020;(11–1):159–166. DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.101.11.027> EDN: WSGZTO
13. Маркова М. Г., Сомова Е. Н. Регенерационная способность *Cerasus fruticosa* и *Prunus domestica* в культуре *in vitro*. Аграрный вестник Урала. 2021;(6(209)):43–52. DOI: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2021-209-06-43-52> EDN: CKENBE
14. Маркова М. Г., Сомова Е. Н. Использование продуктов жизнедеятельности личинок большой восковой моли в клональном микроразмножении земляники садовой. Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2020;(4):66–68. DOI: <https://doi.org/10.30850/vrsn/2020/4/66-68> EDN: PHNLBZ
15. Kondratieva N., Bolschin R., Krasnolutskaia M. Baturin A., Baturina K., Dukhtanova N., Kirillin N., Ovchucova S., Zaitsev P., Somova E., Markova M. Effect of irradiation on the growth and rooting of a climbing rose *in vitro*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;935:012007. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/935/1/012007>
16. Markova M. G., Somova E. N. Clonal micro-propagation of berry crops: monograph. Izhevsk: izd-vo «Alkid», 2020. 102 p.

References

1. Vasilyev A. A., Gasyimov F. M., Galimov V. R. Adaptive potential of cherry in the Chelyabinsk region. *Plodovodstvo i vinogradarstvo yuga Rossii* = Fruit growing and viticulture of South Russia. 2021;(67(1)):44–54. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-1-67-44-54>
2. Suprun I. I., Vinter M. A., Lobodina E. V., Al-Nakib E. A., Avakimyan A. O., Fedorovich S. V. Key issues of biotechnology in reproduction and improvement of horticultural crops. *Plodovodstvo i vinogradarstvo yuga Rossii* = Fruit growing and viticulture of South Russia. 2021;(71(5)):96–115. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-5-71-96-115>
3. Isroilova Sh. Ja. In vitro microclonal multiplication of fruit cultures. *Theoretical & Applied Science*. 2019;(5(73)):531–535. DOI: <https://dx.doi.org/10.15863/TAS.2019.05.73.81>
4. Molkanova O. I., Meleshchuk E. A., Akhmetova L. R. Study of the morphogenetic potential of some representatives of the genus *Cerasus* (mill.) in *in vitro* culture. *Tendentsii razvitiya nauki i obrazovaniya*. 2019;(56-13): 90–94. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18411/lj-11-2019-294>
5. Avakimyan A. O. Nutrient media and their modifications used for clonal micropropagation of cherries and sweet cherries. *Dostizheniya nauki i obrazovaniya*. 2023;(4(91)):10–18. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=54944735>
6. Tashmatova L. V., Ryago N. V., Melyanovskaya A. Yu. The effect of nutrient medias with different hormonal composition on the intensity of propagation of cherry cultivars *in vitro*. *Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo* = Subtropical and ornamental horticulture. 2021;(78):76–82. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.31360/2225-3068-2021-78-76-82>
7. Aremu A. O., Amoo S. O., Fawole O. A., Buthelezi N. M., Makunga N. P., Masondo N. A., Moyo M. Applications of cytokinins in horticultural fruit crops: Trends and future prospects. *Biomolecules*. 2020;10(9):1–71. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10091222>
8. Makarov S. S., Kuznetsova I. B., Sungurova N. R., Kulchitskiy A. N., Chudetskiy A. I., Akhmetova L. R., Akimova S. V. Clonal micropropagation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) of shokoladnitsa cultivar using growth stimulants. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = Izvestia Orenburg State Agrarian University. 2023;(6(104)):86–92. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2023-104-6-86-92>
9. Osokina A. S., Kolbina L. M., Gushchin A. V. Biological bases of breeding the large wax moth (*Galleria mellonella* L.) as a source of biologically active substances: A monograph. Izhevsk: *Izd-vo Anny Zeleninoy*, 2019. 166 p.
10. Baranova I. A., Kondrateva N. P., Baturin A. I., Baturina K. A. Comparison of the effect of different irradiation modes on the increase in the leaf area of meristem plants by statistical methods. *Vestnik NGIEI* = Bulletin NGIEI. 2022;(5(132)):55–64. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.24412/2227-9407-2022-5-55-64>
11. Zelenkov V. N., Latushkin V. V., Ivanova M. I., Lapin A. A., Karpachev V. V., Kosobryukhov A. A., Vernik P. A., Gavrilov S. V. Effect of pulsed illumination on the germination of seeds of some vegetable, oil-bearing and medicinal plants. *Fotonika* = Photonics Russia. 2020;14(5):442–461 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-7296.FRos.2020.14.5.442.460>
12. Shakhov V. V., Fedotova I. E., Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Khromova T. M. Effects of the seasonal factor on the survival rate of cherry explants in *in vitro* culture. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal* = International Research Journal. 2020;(11–1):159–166. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.101.11.027>
13. Markova M. G., Somova E. N. Regeneration capacity of cerasus fruticose and prunus domestica into the *in vitro* culture. *Agrarnyy Vestnik Urala* = Agrarian Bulletin of the Urals. 2021;(6(209)):43–52. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2021-209-06-43-52>
14. Markova M. G., Somova E. N. Using of large wax moth larvae products excreted in clonal microreproduction of garden strawberry. *Vestnik rossiyskoy sel'skokhozyaystvennoy nauki* = Vestnik of the Russian agricultural science. 2020;(4):66–68. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30850/vrsn/2020/4/66-68>
15. Kondrateva N., Bolschin R., Krasnolutsckaya M. Baturin A., Baturina K., Dukhtanova N., Kirillin N., Ovchucova S., Zaitsev P., Somova E., Markova M. Effect of irradiation on the growth and rooting of a climbing rose *in vitro*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;935:012007. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/935/1/012007>
16. Markova M. G., Somova E. N. Clonal micro-propagation of berry crops: monograph. Izhevsk: *izd-vo «Alkid»*, 2020. 102 p.

Сведения об авторах

✉ **Маркова Марина Геннадьевна**, научный сотрудник, Удмуртский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – структурное подразделение ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», ул. Ленина 1, с. Первомайский, Завьяловского района, Российская Федерация, 427007, e-mail: ugniish@yandex.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9427-6766>, e-mail: markovamg@udman.ru

Сомова Елена Николаевна, старший научный сотрудник, Удмуртский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – структурное подразделение ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», ул. Ленина 1, с. Первомайский, Завьяловского района, Российская Федерация, 427007, e-mail: ugniish@yandex.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7917-8738>

Information about the authors

✉ **Marina G. Markova**, researcher, Udmurt Scientific Research Institute of Agriculture – structural subdivision of the Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Lenin st., 1, v. Pervomaisky, Zaviyalovsky district, Russian Federation, 427007, e-mail: ugniish@yandex.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9427-6766>, e-mail: markovamg@udman.ru

Elena N. Somova, senior researcher, Udmurt Scientific Research Institute of Agriculture – structural subdivision of the Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Lenin st., 1, v. Pervomaisky, Zaviyalovsky district, Russian Federation, 427007, e-mail: ugniish@yandex.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7917-8738>

✉ – Для контактов / Corresponding author